

铜绿丽金龟的室内人工饲养

王容燕¹, 王金耀¹, 宋 健¹, 曹伟平¹, 杜立新¹,
冯书亮^{1,*}, 宋福平², 张 杰²

(1. 河北省农林科学院植物保护研究所, 保定 071000; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100094)

摘要: 对室内饲养铜绿丽金龟 *Anomala corpulenta* Motschulsky 的方法和主要影响因子进行了研究。结果表明: 室内饲养的铜绿丽金龟种群完成一个世代平均为 272.3 天, 3 龄幼虫期比田间种群缩短了 103.8 天。在饲养过程中, 幼虫的生长容易受到土壤湿度、食料、病原微生物的影响。卵的孵化率为 86.0%, 1 龄、2 龄和 3 龄幼虫的存活率分别为 82.0%、76.0% 和 60.0%。10 和 15 日龄幼虫在含有马铃薯的土壤中饲养 14 天后的死亡率分别为 $8.8\% \pm 1.6\%$ 和 $4.0\% \pm 1.6\%$, 明显低于初孵幼虫及 5 日龄幼虫的死亡率, 可以作为生物测定的最佳供试幼虫。紫外线处理的壤土和沙壤土中铜绿丽金龟幼虫可以正常生长, 死亡率较低。

关键词: 铜绿丽金龟; 室内饲养; 生活史; 饲养条件

中图分类号: S476.11; S433.2 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2007)01-0020-05

Laboratorial rearing of *Anomala corpulenta* Motschulsky (Coleoptera: Scarabaeoidea)

WANG Rong-Yan¹, WANG Jin-Yao¹, SONG Jian¹, CAO Wei-Ping¹, DU Li-Xin¹, FENG Shu-Liang^{1,*}, SONG Fu-Ping², ZHANG Jie² (1. Institute of Plant Protection, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Baoding, Hebei 071000, China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

Abstract: Rearing of *Anomala corpulenta* Motschulsky were conducted in the laboratory condition and the main influencing factors were evaluated. The results showed that it took 274.3 days for the beetle to complete a life cycle in the laboratory conditions. The duration of the 3rd instar reared in the laboratory was 101.8 days shorter than that in fields. The growth of larvae was influenced by such factors as soil humidity, food and pathogens. The average survival rate of eggs was 86.0% while those of the 1st instar, 2nd instar and 3rd instar larvae were 82.0%, 76.0% and 60.0%, respectively. The mortalities of the 10 day-old and 15 day-old larvae reared in the soil with potato as food for 14 days were $8.8\% \pm 1.6\%$ and $4.0\% \pm 1.6\%$ respectively, significantly lower than those for the newly hatched larvae and 5 day-old larvae. This result suggested that the larval age of 10–15 day-old was the optimum stage for bioassay of Bt. The larvae grew normally in the UV-irradiated loam and sandy loam soil, with their mortalities lower than that in the untreated and sterilized loam and sandy loam soil.

Key words: *Anomala corpulenta*; laboratorial rearing; life history; rearing conditions

金龟子属鞘翅目金龟总科(Scarabaeoidea), 其幼虫俗称蛴螬, 是一类重要的地下害虫。由于这类害虫危害植物的地下部分, 具有一定的隐蔽性, 而且分布广, 危害植物种类多, 因此对农业、园林生产造成了极为严重的损失。金龟子类幼虫发生遍及世界各

地, 在地下害虫中为害居首位, 是世界性的一类难防治的地下害虫(魏鸿钧等, 1989)。在我国每年蛴螬危害花生、马铃薯等作物造成的损失达到 20% 以上。由于金龟子幼虫生活在土壤中, 完成一个世代需 1~2 年或者更长, 土壤中的生态环境复杂, 食料、

基金项目: 国家自然科学基金项目(30200184); 河北省自然科学基金项目(C2005000642); 河北省农林科学院青年基金项目

作者简介: 王容燕, 女, 1971 年生, 助理研究员, 从事杀虫微生物的研究, E-mail: rongyanw@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: fshliang@heinfo.net

收稿日期 Received: 2005-12-22; 接受日期 Accepted: 2006-06-12

土壤性质、土壤湿度、土壤微生物群落和天敌都是影响其生长发育的主要因素(罗益镇和崔景岳,1995),因此,金龟子幼虫的室内种群建立和生物测定都是非常困难的。

苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis*(简称 Bt)在芽孢形成期产生杀虫晶体蛋白(insecticidal crystal proteins, ICPs),由于其对多种害虫有杀虫作用,被广泛应用于鳞翅目、双翅目和鞘翅目等害虫的防治。冯书亮等(2000)筛选获得了 1 株对黄褐丽金龟 *Anomala exoleta* Faldermann 和铜绿丽金龟 *A. corpulenta* Motschulsky 幼虫具有特异杀虫活性的 Bt 新菌株 HBF-1,并对该菌株的杀虫谱等进行了测定(王容燕等 2003),通过多年的研究,总结出了铜绿丽金龟的室内人工饲养方法,明确了生物测定的最适宜幼虫龄和土壤条件,为 Bt 菌株的杀虫活性测定提供了试验依据。

1 材料与方法

1.1 成虫的采集和饲养

2003 年利用 30 W 黑光灯诱集的方法从田间采集铜绿丽金龟交尾盛期的成虫群体 2 000 头,其中一部分用于生物测定,一部分在室内饲养。室内饲养的成虫放入饲养盒(40 cm × 60 cm × 20 cm)中,上面罩 50 cm 高的纱网,每盒雌雄各 50 头左右,盒底放 12 ~ 15 cm 厚的潮湿细土(过 20 目筛),使土壤含水量保持在 18% ~ 20%(下同),饲喂新鲜榆树叶片或玉米叶片,在温度 $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、光周期 16L:8D 的养虫室中饲养,视取食情况及时更换食料。

每 3 ~ 5 天检查土壤湿度和产卵情况:先将成虫取出,放入另一个已经覆有潮湿细土的饲养盒中,然后检查产卵情况,在初产卵期后,每 2 天挑卵一次,将卵放在盛有潮湿细土的饲养盒(Φ 9 cm × 6 cm)中,上面再覆盖一层潮湿细土,在 26°C 中使其孵化,并调查卵孵化率。

1.2 幼虫的饲养

将同一天孵化的幼虫及时挑出,剩余的卵小心放回,并覆上细土。1 龄和 2 龄期幼虫相互残杀能力较弱,但死亡率较高,每个小饲养盒(Φ 8 cm × 5 cm)5 头幼虫,饲喂发芽玉米嫩根和马铃薯块。2 龄时换土一次,每盒 3 头幼虫。3 龄期幼虫由于相互残杀能力强,进行单头饲养,每盒 1 头幼虫。由于食量和排泄量加大,及时地更换土壤和食料,并调查幼虫存活率。

1.3 蛹的处理

3 龄幼虫长到一定时期进入预蛹期,幼虫不食不动,当全身变黄,表明腹部的粪便已经排干净,则不再添加食料,待一定时间后化蛹,将蛹放入潮湿细土中,不要经常翻动,每天傍晚观察成虫的出土情况,将出土的成虫放入饲养盒(50 cm × 100 cm × 20 cm)中,按 1.1 节方法继代饲养。

1.4 土壤条件对幼虫体重和死亡率的影响

1.4.1 供试土壤组成成分及处理:以保定市东郊菜田壤土(氮、磷和有机质含量分别为 72.0 mg/kg、12.3 mg/kg 和 2.2%)、定州市西城区沙壤土(氮、磷和有机质含量分别为 79.8 mg/kg、58.5 mg/kg 和 1.7%)以及保定涞源白石山松针腐殖土(氮、磷和有机质含量分别为 723.8 mg/kg、27.4 mg/kg 和 39.5%)作为供试土壤,每种土壤设 3 个处理:121℃ 湿热灭菌 30 min(ST)、40 W 紫外线照射处理 5 h(距离 50 cm)(UV)和不处理(CK)。

1.4.2 不同日龄幼虫死亡率的比较:分别挑取孵化后 1、5、10、15 和 20 日龄的铜绿丽金龟幼虫,用保定市东郊菜田壤土饲养,在饲养 3、7 和 14 天调查各日龄幼虫的死亡率。

1.4.3 不同土壤条件对幼虫体重和死亡率的影响:将马铃薯切成均匀的细丝(2 mm × 2 mm),用清水漂洗 2 次,控去表面多余水分。将水倒入 200 g 壤土或沙壤土中,放置 2 h 后混匀,使土壤含水量保持在 18%,然后将土壤和 20 g 马铃薯丝混合,分别装入 20 个生测管中(22 mm × 80 mm),作为壤土和沙壤土的处理。将 100 g 腐殖土与水混合,使含水量保持在 30%,分别装入 20 个生测管中,作为腐殖土处理。单管接入健康活泼、整齐一致的 10 日龄铜绿丽金龟幼虫。设 3 次重复。在 30℃、相对湿度 60% 的人工气候箱中饲养,7 天、14 天时检查死活虫数,计算死亡率;称量活虫体重,计算体重增长率。体重增长率(%) = [(处理后体重 - 处理前体重) / 处理前体重] × 100。

1.5 数据统计

数据采用 SPSS10.0 for Windows 统计分析软件进行 LSD 方差分析。

2 结果与分析

2.1 室内种群建立和继代饲养

初步掌握了铜绿丽金龟幼虫的室内人工饲养方法,完成了铜绿丽金龟幼虫在室内的整个生活史(表

1)。室内饲养的铜绿丽金龟种群完成一个生活史平均需要 272.3 天。卵的孵化率为 86.0% ,1 龄、2 龄和 3 龄幼虫的存活率分别为 82.0%、76.0% 和 60.0% ,蛹和成虫的存活率分别为 59.5%和 58.0%。

表 1 铜绿丽金龟发育历期和存活率
Table 1 Developmental duration and survival rate of *Anomala corpulenta* population in the laboratory

	发育历期 (d) Developmental duration	孵化率或存活率 (%) Hatching rate or survival rate
卵期 Egg stage	10.7 ± 0.9	86.0
幼虫期 Larval stage		
1 龄 1st instar	23.7 ± 2.4	82.0
2 龄 2nd instar	27.4 ± 1.2	76.0
3 龄 3rd instar	158.5 ± 20.1	60.0
蛹期 Pupal stage	12.8 ± 3.3	59.5
成虫期 Adult stage	39.2 ± 5.6	58.0

注 Note :供试幼虫 100 头。The number of tested larvae is 100.

2.2 不同日龄幼虫的死亡率(表 2)

饲养 3 天 ,供试的不同日龄铜绿丽金龟幼虫只有 5 日龄幼虫死亡率为 2.5% ,其余日龄幼虫的死亡率均为 0。饲养 7 天 ,初孵幼虫死亡率最高 ,达到 10% ;10 日龄幼虫死亡率最低(1.4%) ,与 15 和 20 日龄幼虫的死亡率无显著差异。饲养 14 天时 ,初孵和 5 日龄幼虫死亡率分别为 20.0%和 25.0% ;20 日龄幼虫死亡率最低(3.5%) ,与 10 和 15 日龄幼虫的死亡率差异不显著。因此 ,10 和 15 日龄幼虫可以作为生物测定的最佳供试幼虫 ;20 日龄幼虫虽然死亡率较低 ,但由于随着幼虫长大 ,对苏云金杆菌的敏感性降低 ,因此 ,不宜作为供试幼虫。

表 2 不同日龄铜绿丽金龟幼虫死亡率
Table 2 Mortality of *Anomala corpulenta* larvae of different age reared for different days

幼虫日龄 (d) Larval age	饲养天数 (d) Rearing days		
	3	7	14
1 (初孵 Newly hatched)	0.0 a	10.0 ± 0.0 a	20.0 ± 0.0 a
5	2.5 ± 0.5 b	4.0 ± 1.4 b	25.0 ± 7.1 a
10	0.0 a	1.4 ± 0.3 c	8.8 ± 1.6 b
15	0.0 a	2.2 ± 1.2 bc	4.0 ± 1.6 b
20	0.0 a	3.3 ± 0.7 bc	3.5 ± 2.1 b

注 Note :同列数据后相同字母表示无显著性差异($P > 0.05$)。Means within a column followed by a common letter are not significantly different at $P = 0.05$.

2.3 不同土壤条件对幼虫体重和死亡率的影响

3 种类型的土壤分别经 121℃ 湿热灭菌 30 min (ST)、40 W 紫外线照射处理 5 h (UV)和不处理(CK)后 ,接入铜绿丽金龟幼虫饲养 ,幼虫体重增长情况见图 1。在 7 天时 ,腐殖土 3 个处理的幼虫体重增长率最低 ,壤土、沙壤土各处理之间差异不显著 ;14 天时 ,腐殖土处理的幼虫体重增长率仍为最低 ,不处理的沙壤土幼虫体重增长率最高 ,其次为灭菌处理的沙壤土、紫外线处理的壤土。

由图 2 可以看出 ,在 7 天时 ,紫外线处理的壤土和不处理的腐殖土幼虫死亡率为 0。14 天时 ,腐殖土各处理幼虫死亡率均偏高 ,而湿热灭菌处理的各土壤中幼虫死亡率均高于紫外线处理和不处理的对照 ,紫外线处理的壤土和沙壤土中幼虫死亡率最低 ,平均低于 5.85%。

将幼虫体重增长率和死亡率结果相结合分析 ,在紫外线处理的壤土和沙壤土中饲养 ,适宜铜绿丽金龟幼虫正常生长 ,死亡率较低。

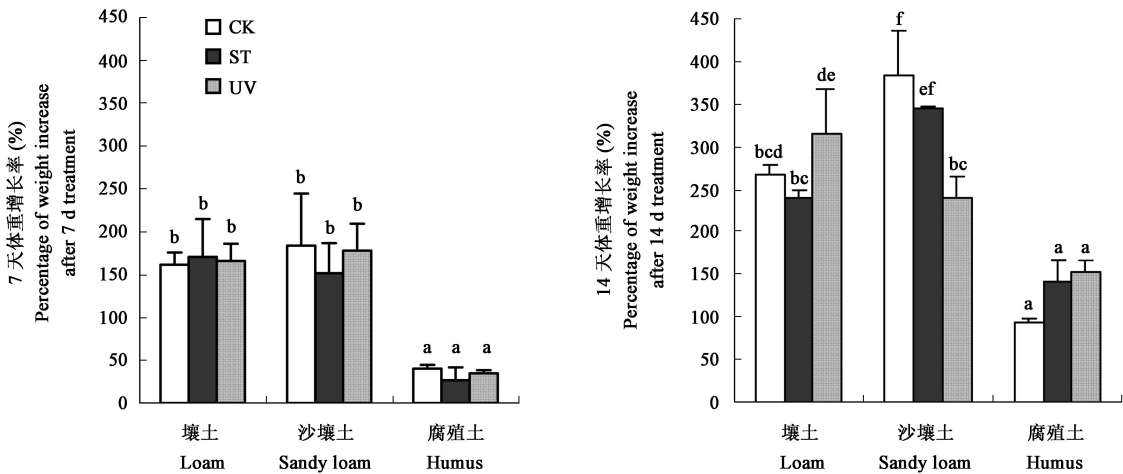


图 1 不同土壤条件对铜绿丽金龟幼虫体重增长的影响

Fig. 1 Effect of soil conditions on weight increase of *Anomala corpulenta* larvae

CK : 未处理 (Control) ; ST : 121℃ 湿热灭菌 30 min (Sterilized for 30 min at 121℃) ; UV : 40 W 紫外线照射处理 5 h (40 W UV-irradiated for 5 h). 图 2 同 The same for Fig. 2.

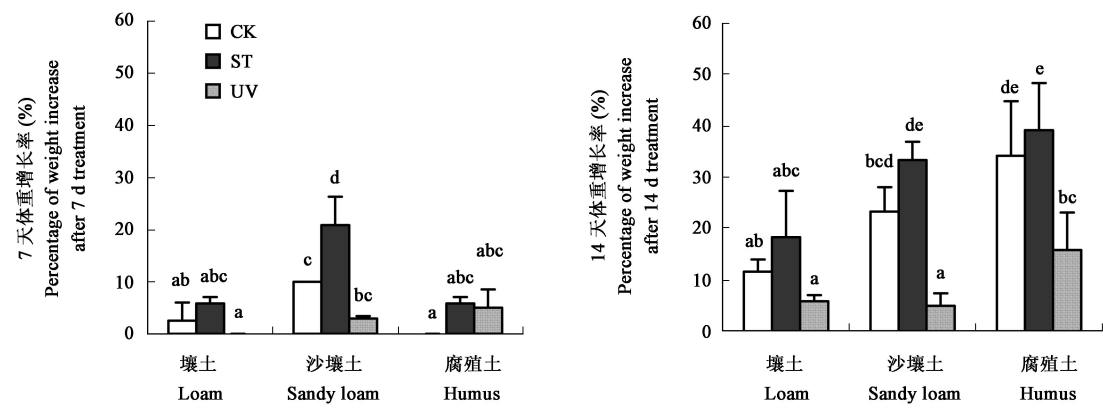


图 2 不同土壤条件对铜绿丽金龟幼虫死亡率的影响
Fig. 2 Effect of soil conditions on mortality of *Anomala corpulenta* larvae

3 讨论

在田间铜绿丽金龟生活史为 1 年 1 代,发育历期为 376.1 天(罗益镇和崔景岳,1995)。采用室内饲养,发育历期为 272.3 天,3 龄幼虫期比田间种群缩短了 103.8 天;并已经完成了连续 4 代的室内饲养,结合田间种群的采集,增加了生测用虫的数量。通过分析,室内饲养种群生育期缩短主要是由于 3 龄期幼虫在室内温度维持在 25℃ 时,没有田间种群冬季休眠现象的发生而引起的。在饲养过程中,我们发现 3 龄期幼虫发育时间较长,因此缩短 3 龄幼虫的发育历期是提高金龟子饲养效率的关键问题,需要加强这方面的研究。

通过进一步观察研究,明确了影响金龟子幼虫生长发育的 3 个主要条件:(1)土壤湿度对土壤昆虫的生存起到了至关重要的作用。铜绿丽金龟子幼虫生活在土壤中,对土壤湿度要求适中,采用壤土的土壤含水量(绝对含水量)18%~20%是金龟子幼虫最适的土壤条件。当土壤含水量低于 10% 以下时,幼虫的食量减少,体重减轻,随着含水量的减少,持续 5 天以上时,幼虫死亡。当土壤含水量高于 25% 以上时,土壤形成泥泞状态,造成土壤中氧气缺乏,不利于金龟子幼虫的生长,从而造成死亡。(2)营养条件对幼虫的生长发育有很大影响,因此,充足适口的食料是保证铜绿丽金龟幼虫种群生长繁殖的基本条件。通过多次试验表明,玉米嫩根是幼虫的最适食料,其次为马铃薯块茎等。(3)在室内饲养的过程中,发现许多感病死亡的铜绿丽金龟幼虫,从中分离到白僵菌 *Beauveria* spp.、绿僵菌 *Metarhizium* sp.、粘质沙雷氏杆菌 *Serratia marcescens* 以及昆虫病原线虫

(异小杆科线虫 *Heterorhabditidae*) ,其中,感染白僵菌的幼虫占总死亡数的 50% ,感染绿僵菌的占 20% ,感染粘质沙雷氏杆菌的占 20% ,感染线虫死亡的占 10% 。因此,应加强室内饲养的管理措施,注意环境卫生,及时清理废弃物,处理被感染的虫尸,定期消毒,从而控制昆虫病原物的污染。

不同土壤条件对铜绿丽金龟幼虫体重和死亡率影响的研究结果表明,幼虫在高温灭菌的土壤中,其体重增长率和幼虫存活率均有低于对照处理的趋势。分析其原因主要是(1)蛱蟥体内的中肠和后肠是各种微生物聚集的场所(Egert *et al.* , 2003) ,在高温灭菌的土壤中不存在微生物,蛱蟥生活在这种土壤中,有益的微生物菌群也受到了破坏;(2)土壤是一种胶体物质,高温灭菌后,可使胶粒的运动加剧,从而破坏了胶粒的溶剂化膜,同时可使胶核对电位离子的吸附力下降,减少了胶粒所带的电荷数,降低了其稳定性(呼世斌和黄蕾蕾,2002) ,也改变了蛱蟥的生存环境。因此,蛱蟥正常的生长发育就会受到影响。

在生物测定中,各方面的条件对测定结果影响很大,保持适宜和相对稳定的生测条件,才能保证试验结果的准确性。本实验结果表明,10 和 15 日龄的铜绿丽金龟幼虫可以作为最佳供试幼虫,紫外线照射处理的壤土和沙壤土是适宜室内饲养铜绿丽金龟幼虫的土壤条件。

王容燕等(2003)研究表明,对黄褐丽金龟和四纹丽金龟 *Popillia quadriguttata* 等丽金龟科幼虫高效的苏云金杆菌菌株对铜绿丽金龟同样高效。铜绿丽金龟是农田、林果害虫之一,在国内分布较广泛,是我国金龟子的第 3 大优势种(罗益镇和崔景岳,1995),虫源易得。因此,以铜绿丽金龟作为筛选对

丽金龟科高效苏云金杆菌菌株的标准试虫是可行的。

致谢 中国农科院生物技术所黄大昉研究员 ,北京市植保环保所张芝利研究员 ,沧州市农科院崔景岳研究员、李仲秀副研究员对本研究给予了指导和支持 ,在此谨表谢意！

参 考 文 献 (References)

Egert M , Wagner B , Lamke T , Brune A , Friedrich MW , 2003. Microbial community structure in midgut and hindgut of the humus-feeding larva of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera : Scarabaeidae). *Applied and Environmental Microbiology* , 11 : 6 659 – 6 668 .

Feng SL , Wang RY , Fan XH , Hu MJ , 2000. A new isolate HBF-1 of *Bacillus thuringiensis* with insecticidal activity for scarabaeid beetles. *Chinese Journal of Biological Control* , 16(2) : 74 – 78 . [冯书亮 , 王容燕 , 范秀华 , 胡明峻 , 2000 . 一株对金龟子类幼虫具有杀虫活

性的苏云金杆菌新分离株 . 中国生物防治 , 16(2) : 74 – 78]

Hu SB , Huang QL , 2005. Inorganic and Analytical Chemistry. Beijing : Higher Education Press. 14 – 22 . [呼世斌 , 黄蕾蕾 , 2005 . 无机及分析化学 . 北京 : 高等教育出版社 . 14 – 22]

Luo YZ , Cui JY , 1995. Soil Entomology. Beijing : China Agriculture Press. 138 – 166 . [罗益镇 , 崔景岳 , 1995 . 土壤昆虫学 . 北京 : 中国农业出版社 . 138 – 166]

Wang RY , Feng SL , Fan XH , Cao WP , 2003. Comparison of the toxicity of *Bacillus thuringiensis* against Scarabaeidae larvae. *Acta Phytophylacica Sinica* , 30(2) : 223 – 224 . [王容燕 , 冯书亮 , 范秀华 , 曹伟平 , 2003 . 苏云金杆菌新菌株对不同金龟子幼虫的毒力比较 . 植物保护学报 , 30(2) : 223 – 224]

Wei HJ , Zhang ZL , Wang YC , 1989. Underground Pest of China. Shanghai : Shanghai Science and Technology Press. 1 – 40 . [魏鸿钧 , 张治良 , 王荫长 , 1989 . 中国地下害虫 . 上海 : 上海科学技术出版社 . 1 – 40]

(责任编辑 : 黄玲巧)